

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 21620121152293

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

厦门海域鱼类复殖吸虫物种资源调查及分子系统学研究

Resource Investigation and Molecular Systematic Analysis
on Digenea Species of Marine Fish in Xiamen Sea Area

陈 馨

指导教师姓名: 刘升发 教授

专 业 名 称: 动物学

论文提交日期: 2015 年 月 日

论文答辩时间: 2015 年 5 月 20 日

学位授予日期:

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2015 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(刘升发教授)课题(组)的研究成果,获得(国家自然科学基金 No.31272278)课题(组)经费或实验室的资助,在(寄生虫免疫与分子生物学)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

() 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

(√) 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

2015 年 月 日

目 录

摘要	1
Abstract.....	3
前言	5
第一部分 厦门海域鱼类复殖吸虫调查.....	9
1.1 材料与方法.....	9
1.2 调查的结果.....	10
第二部分 部分复殖吸虫形态特征的描述.....	15
2.1 牛首科 Bucephaloidea Poche, 1907.....	15
2.1.1 面状前吻吸虫 <i>Prosorhynchus facilis</i> (Ozaki, 1924) Eckmann, 1932 (图 1)	15
2.2 颈源科 Derogenidae Nicoll, 1910	17
2.2.1 多变颈源吸虫 <i>Derogenes varicus</i> (Muller, 1784) (图 2)	18
2.3 半尾科 Hemiuridae Looss, 1899.....	21
2.3.1 纺锤星腺吸虫 <i>Lecithaster fusiformis</i> Wang, 1991 (图 3)	21
2.3.2 海鳗住胃吸虫 <i>Stomachicola muraenesocis</i> Yamaguti, 1934 (图 4) ...	24
2.4 鳞肉科 Lepocreadiidae Odhner, 1905	27
2.4.1 等口双肛吸虫 <i>Bianium isostoma</i> Liu, 1997 (图 5)	27
2.4.2 具棘二肛吸虫 <i>Diploproctodaeum spinosus</i> Liu, 2002 (图 6)	30
2.4.3 并睾伪类鳞肉吸虫 <i>Pseudolepocreadioides symmetrorchis</i> Hafeezullah, 1970 (图 7)	33
2.5 独睾科 Monorchidae Odhner, 1911.....	35
2.5.1 孤睾吸虫未定种 <i>Lasiotocus</i> sp. (图 8)	36
2.5.2 以色列拟克氏吸虫 <i>Parachrisomon israelensis</i> (Fischthal, 1980) Madhavi, 2008 (图 9)	39
2.5.3 拟盘肛吸虫未定种 <i>Proctotrematoides</i> sp. (图 10)	42

2.5.4 盘肛吸虫未定种 <i>Proctotrema</i> sp. (图 11)	44
2.6 脊孔科 Notoporidae Yamaguti, 1938	46
2.6.1 鳊脊孔吸虫 <i>Notoporus leiognathi</i> Yamaguti, 1938 (图 12)	46
2.7 孔肠科 Opecoelidae Ozaki, 1925	48
2.7.1 可变绶肉吸虫 <i>Hamacreadium mutabile</i> Linton, 1910 (图 13)	49
2.7.2 扁形绕宫吸虫 <i>Helicometra fasciata</i> (Rudophi, 1819) Odnher, 1902 (图 14)	52
2.7.3 麦氏吸虫未定种 1 <i>Macvicaria</i> sp. 1 (图 15)	55
2.7.4 麦氏吸虫未定种 2 <i>Macvicaria</i> sp. 2 (图 16)	56
2.7.5 双尾叶孔吸虫 <i>Phylloteema bicaudatum</i> Yamaguti, 1934 (图 17)	58
2.7.6 球形孔肠吸虫 <i>Opecoelus sphaericus</i> Ozaki, 1925 (图 18)	62
2.8 住鳃科 Tandanicolidae Johnston, 1927	64
2.8.1 福建单蠕吸虫 <i>Monodharmis fujianensis</i> (Wang, 1982) Cribb & Bray, 1994 (图 19)	65
第三部分 复殖吸虫分子系统学初步研究	69
3.1 引言	69
3.2 材料与方法	71
3.2.1 标本的采集	71
3.2.2 DNA 的提取、PCR 扩增、测序	71
3.3 结果与分析	73
3.3.1 序列比对	73
3.3.2 基于三种分子标记用不同方法构建系统发育树	74
第四部分 讨论	85
附录	88
参考文献	91
致谢	95

Table of Contents

Abstract in Chinese.....	1
Abstract in English	3
Introduction.....	5
Chapter 1 Investigation of Digenea in Xiamen Sea Area.....	9
1.1 Materials and methods	9
1.2 Survey results	10
Chapter 2 Description of selected Digenea species.....	15
2.1 Bucephaloidea Poche, 1907	15
2.1.1 <i>Prosorhynchus facilis</i> (Ozaki, 1924)Eckmann, 1932 (Fig.1)	15
2.2 Derogenidae Nicoll, 1910	17
2.2.1 <i>Derogenes varicus</i> (Muller, 1784) (Fig.2).....	18
2.3 Hemiuridae Looss, 1899.....	21
2.3.1 <i>Lecithaster fusiformis</i> Wang, 1991 (Fig.3).....	21
2.3.2 <i>Stomachicola muraenesocis</i> Yamaguti, 1934 (Fig.4).....	24
2.4 Lepocreadiidae Odhner, 1905	27
2.4.1 <i>Bianium isostoma</i> Liu, 1997 (Fig.5)	27
2.4.2 <i>Diploproctodaeum spinosus</i> Liu, 2002 (Fig.6).....	30
2.4.3 <i>Pseudolepocreadioides symmetrorchis</i> Hafeezullah, 1970 (Fig.7)	33
2.5 Monorchidae Odhner, 1911.....	35
2.5.1 <i>Lasiotocus</i> sp. (Fig.8)	36
2.5.2 <i>Parachrisomon israelensis</i> (Fischthal, 1980) Madhavi, 2008 (Fig.9).....	39
2.5.3 <i>Proctotrematoides</i> sp. (Fig.10)	42
2.5.4 <i>Proctotrema</i> sp. (Fig.11).....	44
2.6 Notoporidae Yamaguti, 1938.....	46

2.6.1 <i>Notoporus leiognathi</i> Yamaguti, 1938 (Fig.12)	46
2.7 Opecoelidae Ozaki, 1925	48
2.7.1 <i>Hamacreadium mutabile</i> Linton, 1910 (Fig.13).....	49
2.7.2 <i>Helicometra fasciata</i> (Rudophi, 1819) Odhner, 1902 (Fig.14)	52
2.7.3 <i>Macvicaria</i> sp. 1 (Fig.5)	55
2.7.4 <i>Macvicaria</i> sp. 2 (Fig.16)	56
2.7.5 <i>Phylloteema bicaudatum</i> Yamaguti, 1934 (Fig.17).....	58
2.7.6 <i>Opecoelus sphaericus</i> Ozaki, 1925 (Fig.18).....	62
2.8 Tandanicolidae Johnston, 1927	64
2.8.1 <i>Monodharmis fujianensis</i> (Wang, 1982) Cribb & Bray, 1994 (Fig.19)	65
Chapter 3 Preliminary study on phylogenetic analyses of Digenea	69
3.1 Foreword	69
3.2 Materials and methods	71
3.2.1 Collection of specimens.....	71
3.2.2 DNA isolation、PCR amplification and DNA sequencing.....	71
3.3 Results and analysis.....	73
3.3.1 Sequence alignment.....	73
3.3.2 Phylogenetic trees with different methods based on three genes	74
Chapter 4 Conclusion and Prospect	85
Appendix.....	88
References.....	91
Acknowledgements	95

摘要

2012 年 12 月至 2014 年 12 月对厦门海域海洋鱼类感染复殖吸虫种类做了调查, 本次调查共检查鱼类 156 种 5099 条, 感染复殖吸虫的鱼类 71 种, 所得复殖吸虫隶属于 16 科。本论文对其中 8 科 18 属 19 种吸虫进行形态学描述, 名录如下:

1. 面状前吻吸虫 *Prosorhynchus facilis* (Ozaki, 1924) Eckmann, 1932
2. 多变颈源吸虫 *Derogenes varicus* (Muller, 1784)
3. 纺锤星腺吸虫 *Lecithaster fusiformis* Wang, 1991
4. 海鳗住胃吸虫 *Stomachicola muraenesocis* Yamaguti, 1934
5. 等口双重肛吸虫 *Bianium isostoma* Liu, 1997
6. 具棘二肛吸虫 *Diploproctodaeum spinosus* Liu, 2002
7. 并睾伪类鳞肉吸虫 *Pseudolepocreadioides symmetrorchis* Hafeezullah, 1970
8. 孤睾吸虫未定种 *Lasiotocus* sp.
9. 以色列拟克氏吸虫 *Parachrisomon israelensis* (Fischthal, 1980) Madhavi, 2008
10. 拟盘肛吸虫未定种 *Proctotrematoides* sp.
11. 盘肛吸虫未定种 *Proctotrema* sp.
12. 鳊脊孔吸虫 *Notoporus leiognathi* Yamaguti, 1938
13. 可变绶肉吸虫 *Hamacreadium mutabile* Linton, 1910
14. 扁形绕宫吸虫 *Helicometra fasciata* (Rudophi, 1819) Odhner, 1902
15. 麦氏吸虫未定种 1 *Macvicaria* sp. 1
16. 麦氏吸虫未定种 2 *Macvicaria* sp. 2
17. 双尾叶孔吸虫 *Phylloteema bicaudatum* Yamaguti, 1934
18. 球形孔肠吸虫 *Opecoelus sphaericus* Ozaki, 1925
19. 福建单蠕吸虫 *Monodharmis fujianensis* (Wang, 1982) Cribb & Bray, 1994

本文利用 18S rDNA、ITS2、COX1 作为分子标记物对部分所得的部分复殖吸虫 (含日本血吸虫) 之间的种间关系做了分子系统学研究。结果表明: 相同科的复殖吸虫聚成一束, 这与传统形态学分类相吻合。

同一宿主可以感染多种吸虫, 相同吸虫也可以寄生于不同宿主中。我们的研究结

果支持将颈源科(*Derogenidae* Nicoll, 1910)从半尾科(*Hemiuridae* Looss, 1899)独立出来成为独立的科, 但不支持将星腺科(*Lecithasteridae* Odhner, 1905)从半尾科独立出来成为独立的科; 恢复脊孔吸虫科(*Notoporidae* Yamaguti, 1938)的独立地位。

关键词: 厦门海域 复殖吸虫 形态学特征 分子系统学研究 海洋鱼类

Abstract

In this study, a survey was conducted to determine the diversity of Digenea species parasitizing marine fish in Xiamen Sea Area from December 2012 to December 2014. A total of 5099 marine fishes belonging to 156 species were collected, 71 fish species (45.5%) of 16 families were found to be infected with Digenea. Morphological characters of 19 Digenea species belonging to 18 genera in 8 families are described as follows:

1. *Prosorhynchus facilis* (Ozaki, 1924) Eckmann, 1932
2. *Derogenes varicus* (Muller, 1784)
3. *Lecithaster fusiformis* Wang, 1991
4. *Stomachicola muraenesocis* Yamaguti, 1934
5. *Bianum isostoma* Liu, 1997
6. *Diploproctodaeum spinosus* Liu, 2002
7. *Pseudolepocreadioides symmetrorchis* Hafeezullah, 1970
8. *Lasiotocus* sp.
9. *Parachrisomon israelensis* (Fischthal, 1980) Madhavi, 2008
10. *Proctotrematoides* sp.
11. *Proctotrema* sp.
12. *Notoporus leiognathi* Yamaguti, 1938
13. *Hamacreadium mutabile* Linton, 1910
14. *Helicometra fasciata* (Rudophi, 1819) Odhner, 1902
15. *Macvicaria* 1
16. *Macvicaria* 2
17. *Phylloteema bicaudatum* Yamaguti, 1934
18. *Opecoelus sphaericus* Ozaki, 1925
19. *Monodharmis fujianensis* (Wang, 1982) Cribb & Bray, 1994

Phylogenetic relationships among some digenetic species (including *Schistosoma*

japonicum) were analyzed using three different molecular genetic markers: 18S ribosomal RNA (18S rDNA), internal transcribe spacer 2 (ITS2), and cytochrome oxidase I (COXI). Hierarchical clustering of the amplified individual 18S rRNA, ITS2, and COXI sequences showed groupings of the sequences within their families, which are consistent with the classical taxonomy based on morphology.

A fish host could be infected by several Digenea species and the same parasitic species has been found in different hosts. The results of morphological observation and phylogenetic analysis in this study support Derogenidae Nicoll, 1910 being a valid family and Lecithasteridae Odhner, 1905 belonging to the Hemiuridae Looss, 1899. At the same time, Notoporidae Yamaguti, 1938 is considered as a valid family based on the molecular data.

Keywords: Xiamen Sea Area; Digenea; Morphological characters; Molecular systematics study; Marine fish

前言

一. 复殖吸虫概述

复殖吸虫隶属于真核生物界(Superkingdom Eucaryota)、动物界(Kingdom Animalia)、扁形动物门(Platyhelminthes)、吸虫纲(Trematoda)、复殖亚纲(Digenea),种类繁多,包括140多科、1000多属^[1]。复殖吸虫体不分节,呈扁平叶状、舌状或者圆柱形;虫体表面具有光滑的角质层或具小棘;多数种类有口吸盘和腹吸盘,有的缺其一或者全缺;肠常分为两支,肠支末端盲或再分支,或有肛门开口于体外,或连成环,也有的种类不分支或呈H形等;排泄孔大多开口于虫体后端或近后端。

复殖吸虫多为雌雄同体,裂体科除外,生殖器官发达,卵巢1个,睾丸1至多个,一般为2个,圆形或分叶;输精管远端扩大形成贮精囊,其外围有前列腺,末端为阴茎,贮精囊、前列腺和阴茎可包含在阴茎囊内;生殖孔开口于虫体前部、后端或者体侧,常具有生殖腔结构;输卵管、受精囊以及卵黄腺管通入卵膜,子宫自卵膜通到生殖孔,虫体背面有的具有劳氏管与卵膜相通^[2, 3]。复殖吸虫在整个发育过程中需要更换宿主,幼虫期多以软体动物和甲壳动物作中间宿主,成虫绝大部分寄生于人体和各纲脊椎动物,少数在软体动物、甲壳动物。

复殖吸虫不仅种类繁多,而且在虫体大小、形态以及生活史上各有不同,我国海洋鱼类复殖吸虫有60科、774种,其中孔肠科、半尾科是最大两科,分别为114、125种^[4]。海洋鱼类复殖吸虫成虫主要寄生在海洋鱼类消化、循环、泌尿等系统,其幼虫期主要寄生在贝类的肝脏和生殖腺。作为海洋鱼类常见的寄生虫之一,复殖吸虫个体虽小却很活跃,能引起鱼类大量死亡,严重阻碍渔业养殖的发展,给渔民带来不可弥补的损失。

唐崇惕等^[5, 6]曾报道20世纪70年代在浙江、福建沿海等地养殖的蛭因感染一种以前没有发现的吸虫(食蛭泄肠吸虫 *Vesicocoelium solenophagum* Tang, Hsu, Huang & Lu, 1975)幼虫的感染,导致蛭大量死亡(死亡率达30-80%);张国明等^[7]报道的福建宁德、罗源、连江的海水网箱养殖的各种河鲀血液循环系统中,中华拟德式吸虫(*Paradeonacylix sinensis* Liu, 1994)的感染率与死亡率达到70-100%;陈春梅等^[8]指

出海水血居吸虫病是严重危害一些重要商业鱼（金枪鱼，琥珀鱼等）养殖业发展的重大病害，感染率高达 100%，死亡率达 80% 以上；王彦恂等^[9]报道福建闽东海域网养殖的红鳍东方鲀，中华拟德式吸虫的感染率最高可达 100%，其中死亡率达 76%-83.1%。世界其他各地养殖业因寄生虫感染而带来的危害也有报道，Botes 等^[10]报道异肉科和孔肠科中一些种类的后囊蚴寄生在鲍鱼、牡蛎、蛤海胆等性腺上，使其丧失繁殖能力。由此可见，开展海洋鱼类复殖吸虫的研究意义重大。

二. 复殖吸虫的研究概述

复殖吸虫是一种严重危害人、畜健康的危害性寄生虫，早在公元 330 年我国就有姜片虫的记载^[3]。自 1921 年以来，我国学者开始了吸虫的研究，重点在于日本血吸虫、肺吸虫、华枝睾吸虫以及姜片虫的调查。解放后，对严重危害人类健康的吸虫，比如日本血吸虫、肺吸虫、华枝睾吸虫等进行了全面普查，包括发现一些流行区、中间宿主、病原种类及其致病力、诊断、治疗与预防等多层次的研究。同时，对畜牧、渔业以及养殖业吸虫病的研究与防治也随之掀起了一股热潮^[11]。

国内开展海洋鱼类寄生吸虫的研究较晚，主要集中在物种的调查与描述、生活史以及季节变化等三个方面。秦素梅^[4]是我国最早开展海洋鱼类吸虫研究的学者之一；随后，顾昌栋^[12]对食鱼鸟类肠道内几种稀少的棘口吸虫进行了初步研究；顾昌栋^[13]又对我国海产鱼类的十新种进行了描述；曹华^[14]对福建沿海鱼类发状科、隐殖科的两新种进行了鉴定与描述；刘升发^[15, 16]对福建海产鱼类部分复殖吸虫种类进行了鉴定与描述；唐崇惕^[17]详细描述了前睾近似牛首吸虫、福州道弗吸虫的生活史；曹华^[18]对东方肛居吸虫进行了鉴定并对其生活史进行了描述；刘升发^[19]对面状前吻吸虫全程生活史进行描述并首次发现其第一中间宿主寻氏肌蛤；李庆奎^[20, 21]对渤海鱼类复殖吸虫的群落结构、鱼类多样性对复殖吸虫分布的影响、吸虫数量以及水环境对复殖吸虫的影响进行了初步研究；于水舟^[22]对台湾海峡褐菖鲉体内复殖吸虫的种群和群落进行了分析，并对外栉绕宫吸虫在不同月份和不同体长褐菖鲉体内的生态分布进行了研究^[23]。

国外学者进行海洋鱼类复殖吸虫的研究相对较早，如 Parukhin^[24]、Lebedev^[25]等都曾研究过中国海域的吸虫。20 世纪 90 年代，Fernandez^[26]、Blair^[27]等利用 18SrRNA 为标记基因，初步研究了复殖吸虫的系统发生关系；2003 年，Olson^[28]等以 ssrDNA、lsrDNA 为标记对 77 个科 163 种复殖吸虫的分子系统发生学进行了分析。

分子系统学的研究起始于 20 世纪 80 年代末，主要是指采用分子生物学技术对种

的鉴定、遗传演化和种间关系等展开研究。BARKER^[29]等(1993)利用 18S rDNA 对 *Heronimus mollis* 的分类地位进行了研究; Bowles^[30]等利用 ITS2、COX1 为标记对日本血吸虫进行了系统发生关系的分析; 在国内, 传统的形态分类在复殖吸虫鉴定中占主导地位, 分子系统学的研究主要见于与人类以及其他哺乳动物疾病有关的复殖吸虫方面, 如: 郑亚东^[31]等把 18S rRNA 作为靶分子, 对腔阔盘吸虫的分类地位进行了研究, 指出了分子生物学在阔盘吸虫分类中的可行性以及其进化关系; 伍慧兰^[32]等利用线粒体细胞色素 c 氧化酶第一基因(COX1)部分序列、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)脱氢酶亚单位 I 基因(nad1)部分序列为标记, 对来自湖南犬和猫体内的华枝睾吸虫与其他吸虫之间进化关系进行了分系研究; 张广军^[33]等克隆并测定了中华血吸虫的 COX1 和 ND1 基因, 根据测定序列构建了系统发生树, 结果显示该虫属于亚洲血吸虫。

随着分子生物学在分类学应用的发展, 形态学与分子生物技术相结合已经成为一种高效的分类手段。Cremonte^[34]等利用 ITS1-5.8S-ITS2-28S rDNA 为标记, 并结合形态学特点对 Gymnophallidae Odhner, 1905 重新校正, 把该科整理成有效的 7 个属; Urabe^[35]等以 28S rDNA、COX1 位标记基因, 并结合形态学、生活史形态特征把从蚌类性腺中找到的吸虫划分到 subfamily Gorgoderinae (*Phyllodistomum sensu lato*); Kudlai^[36]等把 *Euparyphium capitaneum* Dietz, 1909 的 28S rDNA 的测序结果与棘口科已经发表的 24 种吸虫序列建树, 并结合形态学特点分析, 最终显示 *Euparyphium* Dietz, 1909、*Isthmiophora* Luhe, 1909 为两个显著不同的属。陈春梅^[37]等测得中华拟德式吸虫的 18S rRNA、ITS2 部分序列, 并把它同血居科吸虫、旋睾科吸虫以及裂体科吸虫进行遗传分析, 并结合其形态学特点, 把其归于血居科。

目前, 海洋鱼类复殖吸虫的分类主要依靠其形态学, 但是由于环境、宿主等因素的影响, 这些特征很容易生改变, 所以利用分子生物技术开展海洋鱼类复殖吸虫的分类研究势在必行。迄今, 国内仅侯金英^[38]利用 18S rDNA 为标记测定厦门斜孔吸虫序列, 并把该序列与已发表的复殖吸虫序列进行了比对, 对部分复殖吸虫的进化关系进行了初步分析。本文利用 18S rDNA、ITS2、COX1 作为分子标记, 结合各吸虫形态学特点, 对所得复殖吸虫进行系统分类研究, 希望能对有争议的类群在分类依据方面能有一定的补充。

三. 本论文所处地理优势

我国海洋生物种类繁多，其中多以暖温性种类为主目前已经鉴定的达 20278 种。黄宗国^[39]曾指出台湾海峡鱼类种类繁多，一方面是因为它处于东亚生物分布的境界线附近，另一方面，它南与有划分亚欧大陆区与亚澳过渡带之称的华莱士线接壤。台湾海峡南部海区地形复杂，被称为台湾浅滩。台湾浅滩由多种水系交汇而成，夏季除了南海水的直接作用以外，来自粤东方向的冲淡水以及巴士海峡的海潮支流在一定程度上也会对其产生影响；同时，来自此海域之外的底层低温涌升水也会对台湾海峡附近海域产生一定作用，在多处出现温度峰的同时也产生了温、盐跃层的现象。在这些复杂条件的影响下，台湾浅滩为许多经济鱼类的繁殖、育肥、生长、索饵等一系活动提供了良好场所。

丘书院^[40]指出台湾浅滩作为一个大陆架渔场，是我国著名的三大渔场之一。同时，作为一个上升流渔场，在提供稳定的水文环境的同时也带来了丰富的营养物质、饵料、浮游生物等，这就为鱼类的索饵、生殖洄游提供了更为优越的条件，有利于中心渔场的形成。戴泉水^[41]等通过对台湾海峡南部海域游泳生物的调查，指出该海域该海鱼类共 20 目，86 科，179 属 272 种，其中硬骨鱼类 261 种，软骨鱼为 11 种。

优越的环境条件，丰富的鱼类资源为海洋鱼类复殖吸虫的研究带来了便利。通过对该海域复殖吸虫与宿主之间关系的研究，调查分析该海域复殖吸虫的种类，在反映台湾海峡复殖吸虫寄生状况的同时也可以同南海、黄渤海等海域复殖吸虫作比较，为我国海鱼复殖吸虫的区系研究提供一定的参考资料。

第一部分 厦门海域鱼类复殖吸虫调查

1.1 材料与方法

1.1.1 材料来源

2012 年 12 月至 2014 年 12 月作者对厦门海域鱼类体内复殖吸虫的多样性进行了调查。

1.1.2 虫体的采集、固定及保存

对所得鱼鉴定之后用眼科剪解剖并取下其内脏放入生理盐水中,把多余组织去除,用解剖针剖开内脏逐段检查,对所得虫体根据形态特征分类并做好记录。一部分虫体用 2%福尔马林压片固定后放入 10%福尔马林保存,用于以后虫体的描述以及永久玻片的制作;另一部分保存于无水乙醇中用来提取基因组 DNA。

1.1.3 标本的鉴定依据

鱼类标本的鉴定主要依据《南海鱼类志》^[42]、《澳门鱼类》、《中国海洋鱼类原色图集》、《南沙群岛至华南沿岸的鱼类》^[43]、《福建鱼类志(上、下卷)》^[44],同时辅以鱼类数据库(<http://www.fishbase.org>)校正,以保证所鉴定鱼类命名准确;复殖类吸虫标本的鉴定依据 *Keys To The Trematoda* Vol. 1-3^[45-47]及 *Synopsis of Digenea Trematodes of Vertabrates* Vol. I - II^[48]。

1.1.4 制作永久玻片

- (1) 浸洗:取完整且结构清晰的虫体用蒸馏水浸洗,过夜。
- (2) 40%、60%酒精脱水,分别 2 小时、3 小时。
- (3) 用硼砂洋红染液染色(洋红 1 克、4%硼砂水溶液 100 ml、70%酒精 100 ml),染色 7 小时。
- (4) 染色结束后用 70%酒精洗净染色液,接着用 1%盐酸酒精分色 2-3 分钟,用蒸馏水将盐酸酒精洗干净。
- (5) 40%、60%、70%、80%、95%、无水乙醇(两遍)脱水,每个浓度两小时。
- (6) 用无水乙醇:丁香罗勒油(1:1)透明,时间控制在 1-2 小时。
- (7) 纯丁香罗勒油透明 1-2 小时(两次)。
- (8) 用中性树胶封片。

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.